Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik zu Berlin
Direktor Professor R. Siebeck

Das fettlösliche Vitamin K

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der
Medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Berlin

vorgelegt von

Werner Gruhl

aus Poppitz

15. Mai 1940

Druck: Buchdruckerei Otto Dischner jr. München-Pasing

M 71

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik zu Berlin
Direktor Professor R. Siebeck

Das fettlösliche Vitamin K

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der
Medizinischen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Berlin

vorgelegt von

Werner Gruhl

aus Poppitz

15. Mai 1940

Druck: Buchdruckerei Otto Dischner jr. München-Pasing

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. L. Kreuz
Referent: Prof. Dr. med. Engel
Korreferent: Prof. Dr. med. R. Siebeck

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

In Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet!

Von ausländischen Autoren Dam, Almquist, Stoekstad, Schönheyder wird ein neuer Ernährungsfaktor beschrieben, den sie als Koagulationsvitamin (Vitamin K) bezeichnen.

In unserer Versuchsanordnung kam es darauf an, die von den oben genannten Forschern gefundenen Ergebnisse zu bestätigen und zu ergänzen, um sicher zu gehen, daß das von uns hergestellte Destillat Vitamin K enthielt.

Die wesentlichen Merkmale, die bisher von Dam, Almquist und Mitarbeitern bei einem Vitamin K-Mangel der Hühnchen beschrieben wurde, sollen hier angeführt werden. Das Hauptsymptom ist die sehr stark verlängerte Blutgerinnungszeit. Sie beruht nicht auf einer Fehlbildung der Thrombokinase, des Fibrinogens oder auf einer Verminderung des Calciumspiegels, sondern auf der mangelnden Fähigkeit des Körpers, genügend vollwertiges Prothrombin zu erzeugen. Zur Prothrombinbildung ist offenbar der Ernährungsfaktor K notwendig. Vitamin K als solches kann das Prothrombin (Thrombogen) nicht ersetzen, wie durch die obengenannten Autoren festgestellt wurde. Dam und Schönheyder vermuten, daß das Thrombogen (Prothrombin) das Vitamin K an sich gekoppelt enthält.

Bei länger dauerndem K-Mangel kommt es zu kleinen oder auch ausgedehnten Blutungen. Ebenso sah man die starke Anämie und die manchmal auftretende Hämolyse als sekundäre Zeichen des K-Mangels an.

Chemisch nimmt man an, daß es eine fettlösliche Substanz ist, die aus einem Komplex ungestättigter Kohlenwasserstoffe besteht. Bisher konnte sie aber noch nicht genauer identifiziert werden. Gegen Temperatur ist sie sehr widerstandsfähig und kann bis auf 140 Grad erhitzt werden ohne Einfluß auf ihre Wirksamkeit. Die Substanz verliert an Wirksamkeit, wenn sie längere Zeit Licht und Luft ausgesetzt ist. Von Cannon wurde ein Kohlenwasserstoff ($C_{45}H_{76}$ oder $C_{50}H_{84}$) aus Schweinsleber gewonnen, der dieselben Löslichkeitseigenschaften besitzt, bisher aber noch keinen Einfluß auf die Mangelerkrankung erkennen ließ.

Vitamin-K-Vorkommen.

In der Natur bewiesen sich als besonders reichhaltige Vitamin-K-Quellen die verschiedenen Gemüse, wie z. B. Weißkohl, Rotkohl, Grünkohl, Spinat, Karotten und Tomaten. Ebenso wurden Luzerne, Kastanienblätter, Brennesseln, Sojabohnenöl und andere pflanzliche Öle als reiche Vitaminspeicher gefunden. Zur praktischen, quantitativen Darstellung wird jetzt in der Mayoklinik von S n e l l Luzerne verwandt, da es nicht den lästigen Fäulnisprozeß durchmachen muß, der bei der Gewinnung des Vitamins aus Fischmehl unvermeidlich ist. Die Bakterien beweisen sich bei der Fischmehlfäulnis als die Träger des Vitamins, so z. B. Sarcinea lutea, Staphylococcus aureus, Bakt. Coli. Bei Tieren fand man in geringen Mengen eine Substanz in der Leber gespeichert, die ebenfalls die sog. Prothrombinzeit verkürzt und chemisch den Stearinen anzugehören scheint.

Vitamin-K-Gewinnung.

Wir versuchten, das Vitamin so konzentriert als möglich zu gewinnen. Als Ausgangssubstanz wurde reines Fischmehl und Speisespinat verwandt. Die beiden Gewinnungsmethoden wurden nach den Angaben von D a m angesetzt.

Fischmehl wurde mit Äther extrahiert und getrocknet. Die getrocknete Masse wurde mit Wasser zu einem Brei angerührt und 8—10 Tage der Fäulnis überlassen, da erst durch die Bakterieneinwirkung im Fischmehl Vitamin K entsteht.

Von neuem wurde dieses so vorbehandelte Fischmehl bei 30 Grad Celsius im Exhaustor getrocknet und das Trockenmaterial im Soxhletapp. 2 Stunden mit Äther extrahiert. Im Extrakt fanden wir nach Abdestillation des Äthers eine zähe, ölige, braunrote Flüssigkeit. Aus 50 Pfund Fischmehl erhielten wir rund 50 ccm dieser öligen Substanz. Zu einem kg Grundkost gaben wir 20 mg dieses Öles und konnten feststellen, daß dann bei den Kücken keine Blutungen auftraten.

Weiterhin wurde die Reinigung vorgenommen, indem die in Alkohol gelöste Substanz durch ein Kohle-Magnesiumoxyd-Filter geschickt wurde. Die Carotine und Xantophylle wurden adsorbiert und das Vitamin-K-haltige Öl durch wiederholte Nachspülungen herausgelöst. Nach Einengung im Vakuumapparat blieb ein klares, gelbliches Öl zurück, welches teilweise schon bei Zimmertemperatur in den festen Zustand überging.

Als zweite Vitamin-Quelle diente Speisespinat entsprechend den Angaben von D a m. Spinat wurde bei 60 Grad Celsius gedörrt und dann im Soxhletapparat 24 Stunden lang mit siedendem Aceton extrahiert. Der Vorteil des Acetons lag darin, daß es in der gleichen Zeit das Vitamin in größerer Menge herauslöst, als es mit Äther

möglich ist. Bei einer Temperatur von 60 Grad Celsius und 2 Atm. Unterdruck wurde das Aceton abdestilliert. Gleichzeitig gingen die leichtflüchtigen Öle mit über, von denen Dam durch Versuche an Kücken festgestellt hat, daß sie keinen Einfluß auf die Entwicklung und Verhinderung von Petechien haben. Als Rückstand erhielten wir eine schwarzgrüne Masse, die beim Erkalten erstarrte. Nach Erhitzen im Ölbad bei 120—140 Grad destillierte bei einem Unterdruck von 8 Atm. ein dickes, klares, hellgelbes Öl in einen Sammelkolben über. Hierin ist nach Dam alles Vitamin K enthalten, das in getrocknetem Spinat war. Aus einem kg Trockensubstanz erhielten wir 3 ccm Öl.

Sowohl mit dem aus Fischmehl als auch mit dem aus Spinat gewonnenen Vitamin-K-Präparat wurden Versuche angesetzt, wie sie in folgendem beschrieben werden:

Versuchsanordnung.

Zu den Versuchen wurden Eintagskücken verwandt, die in Holzkäfigen von etwa ½ qm Bodenfläche untergebracht waren. Täglich wurde der Boden mit einer frischen, ½ cm dicken Sandschicht belegt, um zu verhüten, daß die Tiere ihre eigenen Exkremente fraßen, weil in ihnen durch Bakterieneinwirkung Vitamin K entstehen kann. Für genügend Wärme wurde durch eine elektrische Glucke bzw. Sonne gesorgt. Bei schönem Wetter standen die Käfige im Freien in der Sonne; in den letzten Versuchen wurde auch am Tage mit elektrischem Licht bestrahlt. Wasser und die jeweils angeordnete Nahrung standen den Kücken jederzeit zur Verfügung. Das Wasser wurde täglich erneuert, um gärende und faulende Umsetzungen zu beseitigen. Die vitaminfreie Standartkost wurde anfangs gern gefressen, späterhin blieben die feineren Futterbestandteile wie Hefe, Fischmehl häufig liegen und es wurde fast nur der Reis aufgepickt. Hierin lag eine Fehlerquelle, die später durch gleichmäßige Körnung und Zubereitung der Kost vermieden wurde. Die Tiere wurden 30 Tage lang, gelegentlich auch darüber hinaus, geprüft.

Versuche.

Tabelle A:

Futtermittel:	Versuch: 1.	2.	3.	
Ätherextrahiertes Fischmehl	17,5 g	17,5 g	17,5 g	
Ätherextrahierte Bierhefe	7,5	7,5	7,5	
Polierter Reis	73,0	73,0	73,0	
Kochsalz	0,33	0,33	0,33	
Kupfersulfat	0,33	0,33	0,33	
Eisensulfat	0,33	0,33	0,33	
Lebertran	1,00	1,00	1,00	
Vitamin C (Ascorbinsäure)	—	0,05	—	pro kg
Vitamin-K-haltiges Öl	—	—	0,02	pro kg

Tabelle A gibt die Zusammenstellungen der Nahrung an, die wir bei den einzelnen Versuchen benutzten. Im ersten Tierversuch wurde Almquist-Grunddiät gefüttert. In ihr sind alle wichtigen und vom Körper benötigten Stoffe außer dem Vitamin K und C vorhanden. Von 17 Tieren starben drei innerhalb der ersten 8 Tage und drei überlebten den 30. Tag, alle sechs ohne erkenntliche Mangelerscheinungen. Bei den restlichen elf Kücken beobachteten wir vom 10. Tage ab eine Müdigkeit und Mattigkeit in all ihren Bewegungen. Die Flügel hingen herab, der Kopf wurde gesenkt gehalten, das Gefieder sah struppig und aufgeplustert aus. Breitbeinig standen die Tiere am wärmsten Fleck des Käfigs; dennoch reagierten sie noch voll auf äußere Reize. Von Zeit zu Zeit überfiel sie am ganzen Körper ein schwaches Zittern, welches sich später zu tonischen Muskelzuckungen ausbildete. Besonders deutlich waren sie an den Extremitäten zu beobachten. Die Dauer und Stärke dieser Erscheinung steigerte sich bis zum Exitus letalis mehr und mehr. Meist wurden jedoch die Tiere vorher mit Chloroform getötet. Am lebenden Tier fiel bei der Betrachtung der Haut eine sehr ausgeprägte Gefäßzeichnung auf. Blutungen stellten wir meist erst wenige Stunden vor dem Tode fest. Teils fand man kleine, petechiale Blutungen in der Haut, den Muskeln oder der Knochenhaut, teils große, ausgedehnte, flächenhafte Blutungen in die subserösen Gewebe, wobei besonders die Ungerinnbarkeit der Blutaustritte auffiel, wie bei der Sektion festgestellt wurde. Die Haut selbst war grau-gelblich verfärbt; die Röhrenknochen schimmerten nicht, wie später unten beschrieben, rötlich durch die Haut, sondern waren von blasser Farbe.

Blutungen von der oben erwähnten Art konnten in allen Körperteilen festgestellt werden. Besonders scheinen die Teile befallen zu sein, die wie das Herz in fortwährender Tätigkeit sind. Außerdem waren subkutane Ergüsse zu beobachten, die offenbar durch leichte Traumen ausgelöst waren.

Sowohl bei diesen als auch bei den weiteren Versuchen konnten bei einzelnen Tieren starke Erosionen der Magenwand festgestellt werden und öfters auch bei solchen Tieren, die sonst keine Anzeichen einer Avitaminose erkennen ließen. Nach den Berichten von Dam und Almquist sind diese Erscheinungen nicht auf die K-Avitaminose zurückzuführen.

Besonderen Wert legten wir auf die Feststellung der Blutgerinnungszeiten. Da durch den K-Mangel eine Verminderung des Prothrombin eintritt, wurde die Testung nach Quick's Angaben vorgenommen. Hierbei wurden Thromboplastin und Calcium in abgemessenen Mengen zugesetzt. Die Gerinnungszeit ist dann normal, wenn genügend Prothrombin im Serum ist. Bei vermindertem Thrombogengehalt ist die Gerinnung verzögert. Bei voll-

kommen normal ernährten Kücken des Hühnerhofes bewegt sich die Testzeit zwischen 20 und 105 Sekunden, während der Mittelwert 41 Sekunden beträgt. In Tabelle B sind die Testzeiten angegeben. Dam und Glavind benutzen eine andere Testmethode, die in der Zeitschrift für Vitaminforschung, Heft 3, 1938/39, näher beschrieben ist.

Prothrombinbestimmung.

0,9 ccm Blut werden schnell und unter besonderer Vorsicht mit einer 0,1 ccm n/10 Natriumoxalat enthaltenden Rekordspritze entnommen, um jedes Gewebstrauma zu vermeiden, und bei geringer Tourenzahl 5 Minuten lang zentrifugiert. Von dem Plasma werden 0,1 ccm in ein sauberes, trockenes Reagenzglas gebracht und mit 0,1 ccm Thromboplastinlösung versetzt. Hierauf werden 0,1 ccm n/40 Calciumchloridlösung zugegeben und die Mischung dauernd in einem Wasserbad von 37 Grad geschüttelt. Die genaue Zeit bis zur Bildung eines Gerinnsels wird mit der Stoppuhr bestimmt. Mit einem aktiven Thromboplastinpräp. wird die normale Zeit beim Menschen zwischen 16 und 35 Sekunden liegen.

Bereitung des Thromboplastins.

Das Gehirn eines frisch getöteten Kaninchens wird, nachdem die größeren, oberflächlichen Blutgefäße entfernt sind, abgespült und zu einer Paste verarbeitet. Dünnschichtig breitet man diese Masse auf einer Glasplatte aus. Nachdem das Material bei 37 Grad Celsius völlig getrocknet ist, wird es von der Platte abgekratzt, zerkleinert, gut verschlossen und trocken aufgehoben. Das in dieser Trockensubstanz enthaltene Thromboplastin (Thrombokinase) behält seine volle Wirksamkeit bei entsprechender Aufbewahrung ein halbes Jahr. Von diesem Material nimmt man 0,2 g und mischt es sehr gut mit 3 ccm physiolog. Kochsalzlösung. 15 Minuten läßt man dieses Substrat bei 37 Grad Temperatur stehen und erhält eine Emulsion von praktisch höchster Aktivität.

Im zweiten Versuch wurde zur Grunddiät noch pro kg Nahrung 0,05 g Vitamin C (Ascorbinsäure) hinzugegeben. Sechs Tiere überlebten den 30. Tag ohne äußerlich erkennbare Zeichen einer Mangelerkrankung. Elf Stück ließen auch bei der Sektion keine Hämorrhagien erkennen; während von den noch verbleibenden drei Stück zwei geringe Blutungen im Muskelfleisch und in der Serosa erkennen ließen, zeigte das dritte sehr starke ödematöse Anschwellungen im subkutanen Gewebe. Die allgemeinen Anzeichen der K-Avitaminose, wie sie im ersten Versuch beschrieben wurden, waren auch hier in mehr oder weniger ausgeprägtem Maße vorhanden.

Die bei diesen Tieren erhaltenen Testwerte sind in Tabelle B angeführt und werden unten noch besonders behandelt werden. Im Durchschnitt war auch hier die Gerinnungszeit nach Quick sehr stark verlängert.

Der dritte Versuch wurde mit der Almquist-Diät und 0,2 g Vitamin-K-Präparat pro kg Nahrung angesetzt.

Von zwölf Kücken überlebten zehn den 30. Tag; von den zwei verstorbenen wurde das eine am 24. Tag wegen Beinbruchs getötet, während das andere am 25. Tag tot im Stalle lag. Die Sektion ergab keinen auffälligen Befund.

Bei all diesen Tieren war besonders augenfällig ihr schnelles Wachstum, die Frische und Munterkeit. Innerhalb von 3 Wochen verdoppelte sich bei fast allen Tieren das Körpergewicht in bezug auf die ersten Maße, die im Durchschnitt 50—55 g betrugen. Hier wurden zum ersten Male wiederholte Testungen durch Punktion der Flügelvene vorgenommen. Der Durchschnitt der Gerinnungszeiten bewegt sich vom 20.—43. Tag zwischen 57—67 Sekunden. Auf die Prothrombinwerte wird unten noch einmal näher eingegangen.

Die Tiere dieses Versuches wurden noch über den Stichtag hinaus beobachtet, da mit der Möglichkeit gerechnet werden mußte, daß das Vitamin K auch überdosiert werden kann. Am 32. Tag stellten sich Krankheitszeichen ein, die sich im Verlauf der nächsten Tage mehr und mehr ausprägten. Sie bestanden aus Zittern, struppigem Federkleid und taumelndem Gang, so daß der Verdacht auf Beri-Beri nahelag. Wir machten eine Injektion von 0,3 ccm 300 Einheiten Betaxin und gaben außerdem der Nahrung noch eine Tablette Betaxin zu. Die Symptome änderten sich in keiner Weise, sondern wurden stärker. Die Spasmen der Streckmuskulatur wurden ausgeprägter, so daß die Kücken nicht mehr laufen und sitzen konnten; außerdem zeigten sie eine sehr starke Abmagerung. Auffällig war die durchschimmernde Röte aller Röhrenknochen. Die Tiere wurden meist vor dem Exitus getötet. Die Sektion ergab bei drei Kücken sehr starke Ödeme, zwei davon hatten auch kleine Blutungen im serösen Gewebe, die völlig geronnen und scharf begrenzt waren. Weiterhin waren die Drüsen des Magens zystisch erweitert. Die Wand des Drüsenmagens war stark verdickt und stand unter einem hohen Turgor. Die Herzen zeigten durchweg starke Dilatation mit Rückstauung und Vergrößerung der Leber. Das Blut selbst war dickflüssiger als normal und mußte zuletzt mit 0,2 ccm Natriumoxalat entnommen werden, um eine Gerinnung zu verhindern. Die Erscheinungen können aber nicht ohne weiteres auf eine Überdosierung von Vitamin K zurückgeführt werden. Man muß vielmehr eine allgemeine Mangelerscheinung bei einer sehr eintönigen Kost annehmen. So hatten wir mehrfach den Eindruck, daß die Magen-Darmperestaltik erheblich gelitten hatte.

Auswertung.

In unseren Versuchen fanden wir zum großen Teil die Ergebnisse von Dam und Almquist bestätigt. Sie fanden bei ungefähr 75% der Kücken Blutungen. Allerdings stellten wir fest, daß die Hämorrhagien sehr viel weniger und schwächer auftraten, wenn die Nahrung mit genügend Vitamin C versehen war. Besonders bevorzugt waren auch hier für petechiale Blutungen die Organe, die sich in dauernder Bewegung befinden, während für die diffusen Blutungen die subserösen Gewebe bevorzugt waren. Bei kleinen Hautdefekten kam es zu langdauernden Blutaustritten, ohne daß eine Gerinnung eintrat.

Die Hauptbedeutung der Erkrankung liegt in der sehr stark verlängerten Blutgerinnungszeit. Bei einzelnen Kücken scheint allerdings der Mangel an Koagulationsvitamin in der Nahrung keinen Einfluß zu haben, wie man aus den oben angeführten Ergebnissen erkennen kann. Die Erklärung liegt sicher darin, daß durch die Bakterienflora im Darm genügend Vitamin K gebildet wird, um die Avitaminose zu verhindern. Bei einzelnen Tieren, die erst einen sehr kranken Eindruck machten, konnten wir eine spontane Besserung sehen, ohne daß die Fütterung geändert worden ist. Der Testwert bewegt sich bei diesen Tieren, die sich gegen die Mangelkost resistent verhielten, in denselben Grenzen, wie er auch bei normal ernährten Kücken vorkommt. Dabei halten wir bei Hühnern Testwerte von 70 Sekunden noch für normal.

Tabelle B:

Kücken mit norm. Fütterung	Testwerte: 1. C- u. K-frei	2. C-Zusatz	3. K-Zusatz (Fischmehl)
1. 95", 105"	200"	41"	65"
2. 20"	139"	180"	112"
3. 105"	98"	174"	47"
4. 1—43", 2—35", 3—54", 4—50"	231"	400"	47"
5. 25"	435"	140"	63"
6. 38"	385"	85"	46"
7. 47"	445"	454"	64"
8. 35"	401"	181"	47"
9. 34"	42"	—	16"
10. 24"	73"	—	—
11. 22"	85"		
12. 28"	97"		
13. 34"	104"		
14. 34"	—		
15. 28"			
16. 22"			
17. 29"			

18. 59"
19. 1—20", 2—20".

80% der Kücken zeigte eine deutliche Verlängerung der Gerinnungszeit bis zu 8 Minuten unter dem Einfluß der Mangelkost. Die Ausflockung trat bei der verzögerten Gerinnung auch nicht in einem so ausgeprägt schönen Fibrinnetz hervor, wie man es bei normalem Serum erkennen kann. Die blasse Haut und die grauen Röhrenknochen sind wahrscheinlich auf eine Anämie zurückzuführen.

Die Kückengruppen, die mit genügend Vitaminen K in der Nahrung gefüttert wurden, ergaben bei der Testung völlig normale Gerinnungszeiten, außerdem war ihr Wachstum in den ersten Wochen auffällig stark; ihr Gewicht verdoppelte sich vom 4. bis zum 22. Lebenstag. Ferner ließen sie die auffallende Blässe der Haut vermissen, wie sie bei den avitaminotischen Tieren beschrieben wurde.

An Hand dieser Versuche kann man bestätigen, daß durch Extraktion aus gefaultem Fischmehl eine Substanz gewonnen werden konnte, die die Eigenschaft hat, die gestörte Prothrombinbildung wieder normal zu gestalten. Allerdings ist unser Präparat nicht lange haltbar.

Es ist vielleicht möglich, mit dem so gewonnenen und getesteten Vitamin-K-Präparat aus Fischmehl auch Erfolge bei Menschen zu erzielen, wenn durch schlechte Fettresorbtion des Magen-Darmkanals (Verschluß-ikterius, Sprue) K-Mangelerscheinungen bei den Patienten auftreten. Dabei ist unbedingt eine parenterale Verabreichung des Präparates anzustreben. Diesen Weg haben inzwischen D a m und S n e l l schon gewiesen. Auch in Deutschland stellt Bayer jetzt ein injizierbares Präparat her.

So wie die oben beschriebenen Versuche mit dem aus Fischmehl gewonnenen Destillat angesetzt wurden, wurden drei mit dem aus Spinat erhaltenen Öl durchgeführt.

Acht Kücken standen uns zu diesem Versuche zur Verfügung.

I. Zwei fütterten wir mit der Standartkost und 0,01 g K-Substrat pro kg Grundkost.
II. Drei fütterten wir mit der Standartkost und 0,002 g K-Substrat pro kg Grundkost.
III. Drei fütterten wir mit der Standartkost und 0,001 g K-Substrat pro kg Standartkost.

Alle acht Kücken entwickelten sich ganz hervorragend. Nach 14 Tagen ging ein Tier der Reihe III ein. Bei der Sektion wurde ein zystisch veränderter Eierstock und entzündlicher Analverschluß festgestellt. Die übrigen Tiere waren immer sehr munter und zeigten

ein sehr starkes Wachstum. Bis zum 31. Lebenstag hatte sich ihr Gewicht im Durchschnitt verdreifacht. Den höchsten Gewichtsanstieg zeigte ein Kücken der Reihe II von 39 g bis auf 145 g.

Durch Flügelvenenpunktion entnahmen wir auch hier Blut zur Testung; die erste Prothrombinbestimmung machten wir am 28. Tag.

Tabelle C:

Testwerte von Kücken mit aus Spinat gewonnenem Vitamin K gefüttert.

Nr.	28. Tag	35. Tag	40. Tag	Fütterung
1.	40"	—	—	I
2.	45"	135"	165"	I
3.	40"	38"	172"	II
4.	35"	82"	120"	II
5.	45"	221"	—	II
6.	—	—	—	III
7.	55"	220"	—	III
8.	50"	—	—	III

Bei allen Tieren stellten wir eine normale Testzeit fest. Sie bewegte sich zwischen 35 und 50 Sekunden (siehe Tabelle). Ein Kücken verblutete am selben Tag aus der Punktionsvene (Reihe III). Bei der Sektion konnten wir von der Einstichstelle nach dem Brustkorb zu flächenhafte Blutungen erkennen. Das Kücken hatte sowohl die längste Gerinnungszeit als auch das größte Gewicht von 100 g. Bei der zweiten Testung nach 8 Tagen stellten wir schon erheblich differente Gerinnungszeiten fest, die sich von 38—220 Sekunden erstreckten (siehe Tabelle). Die verzögerte Gerinnungszeit finden wir besonders bei den Tieren, die vom 26.—31. Lebenstag über 20 g an Gewicht zugenommen hatten und außerdem ein Gewicht von über 100 g besaßen. Es ist anzunehmen, daß diese stark wachsenden Tiere einen besonders großen Vitaminbedarf haben, für den die vorgesehene Dosierung nicht ausreichte. Die letzten Tiere wurden wegen allgemeiner Schwäche getötet.

Die Sektion ergab bei allen Kücken eine starke Hyperämie der Leber, bei etwa der Hälfte ein maximal dilatiertes Herz und einen sehr großen Magen mit zystisch erweiterten Drüsen. Bei einzelnen dieser zuletzt getöteten Tiere fanden wir sowohl petechiale Blutungen als auch flächenhaft ausgebreitete. Die Erklärung dieser Erscheinung liegt wohl darin, daß der Organismus der Tiere, die alle ein Gewicht von über 100 g besaßen, mit dem ihm dargereichten Vitamin in der bisherigen Nahrung nicht mehr genügend Prothrombin erzeugen kann. Daher stellt sich eine verlängerte Gerinnungszeit des Blutes ein und schließlich Petechien. Das normale Verhalten

der Blutgerinnungszeit bis zum 30. Tag zeigt, daß auch im Gemüse (Spinat) Vitamin K enthalten ist.

In weiteren Versuchen konnte bei längerer Lagerung des vom Fischmehl gewonnenen K-Präparates ein Verlust an Wirksamkeit festgestellt werden. Snell machte dieselben Beobachtungen. Bei dem aus Luzerne gewonnenen Präparat stellte er diese Erscheinung nicht fest.

Zusammenfassung.

1. Aus Fischmehl durch bakterielle Einwirkung und aus Spinat wurde ein Öl gewonnen, das entsprechend den Angaben von Dam und Almquist die Eigenschaften des antihämorrhagischen Vitamins K zeigt.

2. Nachgewiesen wurde dies an Fütterungsversuchen mit Kücken.

Literatur.

Almquist, 1936, Purification of the antihemorrhagic vitamin. J. Biol. Chem. 114, 241—45.

— — 1936, Purification of the antihemorrhagic vitamin by destillation. J. Biol. Chem. 115, 589—91.

— — J. H. and Stockstad, E. L. R. 1935 a, Dietary hemorrhag. chick disease. Nature, 136, 31.

— — 1935 b, Hemorrhagic chick disease of dietary origin. J. Biol. Chem. 111, 105—13.

— — 1936 a, Factors influencing the incidence of dietary hemorrhagic disease in chicks. J. Nutr. 12, 329—35.

— — 1936 b. A nutricionale deficieny causing gizzard errosions in chicks. Nature 137, 581—82.

— — 1936 c. The gizzard factor of the chick. J. Nutr. (inpress).

Dam H. and Schönheyder F., 1936, The occurence and chemical nature of vitamin K. Biochem. J. 30, 897—901.

— — 1936, Studies on the mode of action of vitamin K. Biochem. J. 30, 1075—79.

Mc. Farlane, W. D. Graham, W. R. Jr. and Richardson F., 1931. The fatsoluble vitamin requirement of the chick. Biochem. J. 25. 358 bis 366.

Schönheyder F., 1936, The quantitative determination of vitamin K. Biochem. J. 30, 890—96.

Scott K. G. and Cook S. F., 1936. The syndrome induced in poultry by intoxication factor and its relation to the antihemorrh. factor. Univ. Calif. Publ. Physiol. 8, 135—46.

A. J. Quick, Stanlay-Brown, F. W. Bankroft, A study of the coagulation. defect in hemophilia and jaundice. Americ. journal of the Medical Science. Bd. 190 S. 501 (1935).

Dam u. a. Isolierung des Vitamins K in hochgereinigter Form Helvetica chimica Acta. 1939. S. 311.

Dam, Vitamin K. Zeitschrift für Vitaminforschung 8, S. 248 (1928).

Engel R. Sprue und Vitamin-K-Mangel. Med. Welt. 1939, Nr. 4.

H. J. Almquist, 1937. The antihemorrhagic vitamin. Poultry science Vol XVI Nr. 3. May, 1937.

— — c. f. Pentler and E. Mecchi. Synthesis of the antihemorrhagic vitamin by bacteria. (Introduced by K. F. Meyer.)

R. H. Butt. M. D. A. M. Snell, 1938. Further observations on the use of vitamin K in the prevention and control of the hemorrhagic diseases in the cases of jaundice.
Staffmeetings of the Mayo Clinic.

Dam H. Vitamin K. Zeitschrift für Vitaminforschung, Heft 3 1938/39.

Lebenslauf.

Am 25. Oktober 1913 bin ich, Werner Herbert Gruhl, evang. Konfession, als Sohn des Bauern Herbert Gruhl und seiner Frau Johanna, geb. Hahn, in Poppitz geboren. Bis Ostern 1924 besuchte ich die Volksschule in Glossen und von 1924—1934 das Staatsreal-gymnasium mit höherer Landwirtschaftsschule zu Döbeln, an dem ich am 4. März 1934 die Reifeprüfung bestand. Vom 1. April 1934 diene ich als Sanitätsoffiziersanwärter und begann im gleichen Semester das Studium der Medizin in Königsberg. Ab 1. November 1934 war ich bis 30. Juni 1936 an der Friedrich-Wilhelm-Universität zu Berlin eingeschrieben und bestand da am 1. Juli 1935 das Vor-physikum und am 4. Juli 1936 das medizinische Vorexamen. Die folgenden drei klinischen Semester immatrikulierte ich mich in München, um zum Sommersemester 1938 wieder nach Berlin zurück-zukehren. Hier lege ich am Schluß des 10. Studiensemesters das medizinische Staatsexamen ab.

Werner Gruhl.